

II Simposio Latinoamericano de Aplicaciones Nucleares en la Agricultura

Artículo/Article
12 (22), 50-57

Generación y selección de mutantes de papa (*Solanum tuberosum*) con resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*)

Jorge Rivadeneira[1*], Roberto López[2], María Villavicencio[3], Xavier Cuesta[1]

[1]Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina (EESC), Programa Nacional de Raíces y Tubérculos. Mejía, Ecuador.
[2]Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Medio Ambiente. Guaranda, Ecuador.
[3]Escuela Politécnica Nacional, Departamento de Ciencias Nucleares, Quito, Ecuador.
Autor por correspondencia / Corresponding autor, e-mail: jorge.rivadeneira@iniap.gob.ec

Generation and selection of potato mutants (*Solanum tuberosum*) with resistance to late blight (*Phytophthora infestans*)

Resumen

El objetivo de esta investigación fue generar y seleccionar mutantes con resistencia al tizón tardío, provenientes de la variedad Superchola, mediante radiaciones con fuente ^{60}Co. Los ensayos se implementaron en la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP, para lo cual, se irradiaron explantes de yemas axilares y apicales de papa in vitro de 45 días de crecimiento. La dosis óptima de irradiación para explantes provenientes de yemas apicales fue de 35 *Gy* y para explantes de yemas axilares fue de 30 *Gy*. En laboratorio se realizaron tres micropropagaciones sucesivas para generar y estabilizar las mutaciones. Los mutantes sólidos se inocularon con una suspensión de $0.5x10^4$ zoosporas ml^{-1} de *P. infestans* y se evaluaron ocho días después de la inoculación. En campo se midió la respuesta de 116 mutantes al ataque de tizón tardío. Se incluyeron cinco controles, las variedades resistentes INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa y las susceptibles Superchola, INIAP-Gabriela y Uvilla. Se utilizó un diseño experimental de látice parcialmente balanceado 11x11 con tres repeticiones. La prueba de separación de medias utilizada fue Tukey al 5%. Las variables evaluadas fueron: área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), calculada con base en las 12 lecturas de severidad y el rendimiento expresado en kilogramos por planta. Los individuos seleccionados como mutantes sólidos correspondieron al 75% originados de yemas apicales (1319 mutantes) y el 69% originados de yemas axilares (2145 mutantes). El 80% de mutantes de origen axilar y el 62% de origen apical mostraron reacción de susceptibilidad a *P. infestans*. El porcentaje de mutantes sólidos que mostraron una respuesta de resistencia fue reducido en relación a la población inicial, el 20% de mutantes de origen axilar y 38 % de mutantes de origen apical mostraron resistencia a *P. infestans*. En campo para ABCPE se encontraron ocho rangos, las variedades INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa y los mutantes m67, m92, m39 se ubicaron en los primeros rangos con valores menores a 2536.24 unidades de ABCPE. Con respecto al rendimiento se



Editado por / Edited by: Gabriela Albán

Recibido / Received: 28/09/2020

Aceptado / Accepted: 13/10/2020

Publicado en línea / Published online: 01/04/2021

establecieron tres rangos, los mutantes m42 y m65 se ubicaron en el primer rango con 1.15 kg planta^{-1}. Bajo condiciones de laboratorio se seleccionaron 938 mutantes con resistencia *P. infestans* y 18 en condiciones de campo.

Palabras clave: Explantes, Rendimiento, Severidad, Yemas apicales, Yemas axilares.

Abstract

To generate and select potato mutants from Superchola potato variety with resistance to late blight, an experiment was implemented at the Santa Catalina Research Station of INIAP. It consisted of ^{60}Co irradiated explants from axillary and apical buds from 45 old-day *in vitro* potato plants. The optimal irradiation dose for explants from apical buds was 35 *Gy* and from axillary buds explants was 30 *Gy*. Three successive micropropagations were performed to generate and stabilize the mutations. Solid mutants were inoculated with a suspension of 0.5 x10^{4} zoospores ml^{-1} of *P. infestans*. They were evaluated eight days later. Under field conditions, 116 mutants were assessed for resistance to late blight. Five controls were included, the resistant varieties INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa, and the susceptible controls Superchola, INIAP-Gabriela, and Uvilla. A partially balanced 11x11 lattice experimental design with three replications was used. Tukey test at 5% was applied. The variables evaluated were area under the disease progress curve (AUDPC), based on 12 severity readings and the yield expressed in kilograms per plant. The individuals selected as solid mutants corresponded to 75% originating from apical buds (1319 mutants) and 69% originating from axillary buds (2145 mutants). Eighty percent of mutants of axillary origin and 62% of apical origin showed a susceptibility reaction to *P. infestans*. The percentage of solid mutants that showed a resistance response was reduced in relation to the initial population, 20% of mutants were resistant of axillary origin and 38% of mutants of apical origin. For AUDPC, eight ranges were found. INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa, m67, m92, m39 were in the first ranges, with AUDPC lower than 2536.24. Regarding yield, three ranges were established. The m42 and m65 mutants were in the first range with 1.15 kg plant^{-1}. In the laboratory, 938 mutants with resistance *P. infestans* were selected. In the field, 18 mutants with resistance *P. infestans* were selected.

Keywords: Apical buds, Axillary buds, Explants, Severity, Yield.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos alimenticios más importantes del mundo después del arroz, trigo y maíz en términos de consumo humano [1]. Más de mil millones de personas en todo el mundo consumen papas y la producción mundial del cultivo superó los 368 millones de toneladas en 2018 [2].

En Ecuador, la producción nacional de papa en el 2018 fue de 269 201 toneladas, cultivadas en 23 974 hectáreas, con un rendimiento promedio de 16.28 t ha^{-1} [3]. Esta presentó una reducción del 29% respecto al año 2017. Una de las causas se debió al efecto de las plagas que ocasionaron pérdidas en la producción del 13% [4].



El cultivo de papa se ve afectado por factores bióticos (plagas y enfermedades) y abióticos (sequía, bajas temperaturas, calor, entre otros) que afectan la producción y calidad [5,6]. Una de las principales enfermedades que afecta al cultivo es el tizón tardío, causada por un Oomicete denominado *Phytophthora infestans*. Esta enfermedad puede causar pérdidas en el rendimiento superiores al 70% [7,8,9].

La mayoría de variedades de papas cultivadas en Ecuador son susceptibles a tizón tardío y para combatir esta enfermedad una de las estrategias utilizada por los agricultores es el uso de fungicidas. Los agricultores ecuatorianos realizan hasta 23 aplicaciones en variedades susceptibles como es Superhola [10]. Otra alternativa es el mejoramiento genético mediante cruzamientos, selección clonal, selección por pedigrí, mutaciones inducidas entre los principales. La presente investigación tuvo como objetivo generar y seleccionar mutantes de papa con resistencia a *P. infestans* provenientes de la variedad Superchola, obtenidas mediante radiaciones con ^{60}Co.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La investigación se efectuó en la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Cantón Mejía, Provincia de Pichincha, ubicada a una altitud de 3050 metros sobre el nivel del mar.

Generación de mutantes

A partir de plántulas de papa de la variedad Superchola cultivadas in vitro, se obtuvieron explantes de yemas apicales y axilares que fueron colocadas en 20 cajas Petri con agua desionizada estéril. Cada caja Petri contenía 50 explantes. En total se utilizaron 500 explantes provenientes de yemas axilares y 500 explantes de yemas apicales. El proceso de irradiación se efectuó con una fuente de ^{60}Co, perteneciente al Departamento de Ciencias Nucleares de la Escuela Politécnica Nacional. Los explantes fueron sometidos a la dosis óptima determinada de 35 *Gy* para los explantes de yemas apicales y 30 *Gy* para los explantes de yemas axilares. Posteriormente, los explantes irradiados seleccionados se colocaron en un medio básico de cultivo Murashige & Skoog (M&) [11]. Se realizaron tres micropropagaciones sucesivas cada 45 días. Los mutantes sólidos (libres de quimeras), provenientes de yemas axilares y apicales identificados, fueron sembrados en frascos de vidrio de un diámetro de 10 cm con medio básico de cultivo M&S. Cada frasco contenía cinco cortes de yemas separados de 2 a 3 cm entre cortes. Las condiciones de crecimiento in vitro fueron de 24 °C, 16 horas de luz.

Inóculo de *Phytophthora infestans*

Para las inoculaciones se utilizó un aislamiento de una raza compleja con 11 genes *R* obtenida de la colección de aislamientos del INIAP. La activación, multiplicación, preparación y aplicación del inóculo de *P. infestans* se lo realizó de acuerdo a la metodología establecida por Gamboa, Pérez, Andrade-Piedra & Forbes (2019) [12].

Selección in vitro

Los mutantes sólidos se inocularon cuando las plántulas presentaron entre tres a cuatro hojas completamente desarrolladas en frascos de vidrio (cinco plántulas por frasco), con una suspensión de $0.5x10^4$ zoosporas ml^{-1} de inóculo de *P. infestans*. Después de ocho días de la inoculación, las plántulas fueron evaluadas por su respuesta al aislamiento para lo cual se utilizó la escala utilizada por Huang, Vleeshouwers, Visser & Jacobsen (2005) [13] donde: 1 = lesión extendida con una esporulación masiva; 2 = poca extensión de la lesión o poca esporulación; 3 = lesión sin extensión con poca esporulación; 4 = lesión sin extensión, rastros de necrosis, sin esporulación; y 5 = sin síntomas.

Evaluación en campo

Se evaluaron 116 plantas mutantes que presentaron resistencia a tizón tardío en condiciones de laboratorio. Se utilizaron cinco variedades testigo: INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa, como resistentes, e INIAP-Gabriela, Superchola y Uvilla como susceptibles. El diseño experimental utilizado fue látice parcialmente balanceado 11x11 con tres repeticiones. Se utilizó la prueba de Tukey al 5% para los tratamientos que presentaron diferencias estadísticas. Las variables evaluadas fueron severidad a tizón tardío expresada en valores de área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento en kilogramos por planta [14]. La severidad se evaluó cada 7 días a libre infección a partir de los 45 días después de la siembra, en total se realizaron 12 lecturas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mutantes sólidos

Los individuos seleccionados como mutantes sólidos, correspondieron al 75% originados de yemas apicales (1319 mutantes), mientras que un 25 % fueron deformes (434 mutantes); y 69% seleccionados de yemas axilares (2145 mutantes), con 31% de deformes (976 mutantes). En total se generaron 3464 mutantes sólidos y 1410 mutantes deformes. Las yemas apicales y axilares provenientes de Superchola in vitro irradiadas con fuente ^{60}Co generaron una población de mutantes sólidos. Bado *et al*., (2016) [15] menciona que este método de cultivos in vitro de papa irradiados con una fuente de ^{60}Co es una alternativa eficaz para generar variación genética.

Reacción a *Phytophthora infestans* de mutantes in vitro

Se evaluaron 1319 mutantes sólidos provenientes de yemas apicales. Se identificó que el 38% presentaron una respuesta de resistencia a *P. infestans* ubicándose en la escala 4 y 5 con 316 y 182 mutantes, respectivamente; mientras que el 62% de los mutantes mostraron una reacción de susceptibilidad ubicándose en la escala 1 y 2, con 451 y 370 mutantes, respectivamente. Los mutantes sólidos provenientes de yemas axilares evaluados fueron 2145, de los cuales el 20% mostraron una respuesta de resistencia a *P. infestans* y se ubicaron en la escala 4 y 5, con 179 y 261 mutantes, respectivamente. El 80% de las yemas axilares mostraron susceptibilidad y se ubicaron en la escala 1 y 2, con 1044 y 1482 mutantes, respectivamente. En total, se evaluaron 3464 mutantes sólidos provenientes de yemas apicales y axilares y solo el 27.08%



(938 mutantes) presentaron resistencia a *P. infestans*. Gosal *et al*., (2001) [16] en su evaluación in vitro de mutantes provenientes de dos variedades presentaron valores similares con 42% y 36% de mutantes con resistencia a *P. infestans*, mientras Al-Safadi & Arabi (2003) [5] en su evaluación in vitro a *P. infestans* en mutantes provenientes de tres variedades obtuvo menos del 5% de mutantes con resistencia a tizón tardío.

El análisis de la varianza para ABCPE y rendimiento por planta (RP) estableció diferencias significativas al 1% de probabilidad. El promedio general fue de 3261.31 y 0.60 para ABCPE y kg planta^{-1}, respectivamente. El coeficiente de variación (CV) fue de 15.92% y 45.60% para ABCPE y para RP, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de varianza para ABCPE y RP en la evaluación de mutantes con resistencia a *P. infestans*) en la variedad Superchola, EESC, Ecuador.

Fuente de Variación	GL	Cuadrados Medios	
		ABCPE	RP
Total	362	-	-
Repetición	2	5.82^{ns}	38.96^{ns}
Mutantes	120	2.51**	2.10**
Bloque ajustado	10	2.01**	4.59**
Error Intrabloque	132	2.52**	2.84**
Error	230		
CV (%)		15.92	45.60
PG		3261.31	0.60

** Significativa al 1%; ^{ns} no significativo; CV=coeficiente de variación; PG= promedio general; ABCPE=área bajo la curva de progreso de la enfermedad; RP=rendimiento por planta (kg).

Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE)

Al realizar la prueba de Tukey al 5% para ABCPE se encontraron ocho rangos. Las variedades INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa y los mutantes m67, m92, m39 se ubicaron en los primeros tres rangos con valores menores a 2536.25 unidades de ABCPE; mientras que el mutante m75 se ubicó en el último rango con 4829.52 unidades de ABCPE (Tabla 2). Los tres mutantes (m67, m92, m39) mostraron la mayor resistencia a *P. infestans* lo que representan el 2.59% de los mutantes evaluados (116 mutantes). Kowalski & Cassells (1999) [17] obtuvieron un porcentaje mayor de mutantes con resistencia a tizón tardío (7%) provenientes de una variedad comercial. Dentro de las variedades testigo, Superchola y Uvilla fueron los más susceptibles a *P. infestans* con valores de 3716.86 y 4237.14 unidades de ABCPE, respectivamente. A pesar de que existió variación en la respuesta de los mutantes a *P. infestans*, no se encontraron mutantes con mayor resistencia a la mostrada por la variedad testigo INIAP-Santa Catalina.

Rendimiento por planta (RP)

Al realizar la prueba de Tukey al 5% para RP se establecieron tres rangos, los mutantes m42, y m65 se ubicaron en el primero con 1.15 kg planta^{-1}. La variedad INIAP-Santa Catalina y el

mutante m49 se ubicaron en el segundo con rendimientos entre 1.09 y 1.12 kg planta^{-1}, respectivamente; mientras que los mutantes m115, m37, m69 y m24 se encontraron en el último rango con rendimientos inferiores a 0.24 kg planta^{-1}. Las variedades susceptibles Superchola, Uvilla e INIAP-Gabriela presentaron rendimientos de 0.85, 0.40 y 0.30 kg planta^{-1}, respectivamente (Tabla 2). Al comparar el rendimiento de los mutantes m42, m65 y m49 con Superchola (variedad de la que provienen los mutantes), se observó un incremento en el rendimiento de entre el 24.11% al 26.09%. Resultados similares lo obtuvo Salomón, González, Castillo & Varela (2017) [18] al evaluar mutantes provenientes de una variedad irradiada con fuente ^{60}Co (30 *Gy*), que reportó un incremento promedio del rendimiento por planta de 43.86% comparado con la variedad de origen de los mutantes. Se identificó mutantes con rendimientos similares o superiores a las variedades resistentes, los cuales tienen potencialidad para seguir sus evaluaciones dentro del esquema de mejoramiento del Programa Nacional de Raíces y Tubérculos, rubro papa, del INIAP establecido en Cuesta, Rivadeneira & Monteros (2015) [14].

Tabla 2. Promedio y prueba de Tukey al 5% para ABCPE, RP en materiales mutantes y variedades testigo en la EESC, Ecuador.

Genotipos	ABCPE	RP	Genotipos	ABCPE	RP	Genotipos	ABCPE	RP
I-Sta. Catalina	1638.88a	1.09 ab	m32	3084.74 a-g	0.57 abc	m116	3401.96 b-h	0.38 abc
I-Fripapa	2304.69 ab	0.72 abc	m63	3086.54 a-g	0.63 abc	m70	3404.18 b-h	0.52 abc
m67	2373.31 abc	0.70 abc	m107	3089.55 a-g	0.50 abc	m1	3436.73 b-h	0.72 abc
m92	2522.07 a-d	0.73 abc	m52	3097.66 a-g	0.32 abc	m74	3443.41 b-h	0.72 abc
m39	2536.24 a-d	1.02 abc	m103	3110.44 a-g	0.56 abc	m35	3450.19 b-h	0.70 abc
m57	2583.76 a-e	0.30 abc	m110	3113.40 a-g	0.73 abc	m51	3466.42 b-h	0.85 abc
m113	2610.05 a-f	1.00 abc	m16	3117.79 a-g	0.50 abc	m104	3479.71 b-h	0.60 abc
m25	2626.14 a-f	0.82 abc	m86	3132.67 a-g	0.72 abc	m80	3501.92 b-h	0.52 abc
m8	2661.35 a-f	0.45 abc	m41	3141.97 a-g	0.58 abc	m17	3508.03 b-h	0.37 abc
m58	2692.00 a-f	0.82 abc	m81	3148.38 a-h	0.27 bc	m56	3510.17 b-h	0.78 abc
m117	2709.69 a-f	0.27 bc	m47	3148.99 a-h	0.90 abc	m53	3531.11 b-h	0.53 abc
m77	2716.60 a-f	0.40 abc	m96	3171.58 a-h	0.79 abc	m48	3568.36 b-h	0.78 abc
m11	2723.96 a-f	0.72 abc	m4	3176.69 a-h	0.57 abc	m15	3569.84 b-h	0.28 abc
m89	2736.12 a-f	1.05 abc	m38	3178.65 a-h	0.30 abc	m98	3631.96 b-h	0.63 abc
m112	2757.30 a-f	0.82 abc	m65	3200.22 a-h	1.15 a	m105	3642.09 b-h	0.52 abc
m49	2757.30 a-f	1.12 ab	m30	3200.61 a-h	0.42 abc	m40	3654.79 b-h	0.97 abc
m13	2778.92 a-f	0.81 abc	m62	3201.52 a-h	0.62 abc	m19	3703.32 b-h	0.32 abc
m111	2790.44 a-f	0.55 abc	m12	3226.16 a-h	0.47 abc	m85	3712.00 b-h	0.37 abc
m43	2798.96 a-f	0.62 abc	m9	3229.18 a-h	0.47 abc	m109	3716.49 b-h	0.28 abc
m55	2806.70 a-f	1.03 abc	I-Gabriela	3235.66 a-h	0.30 abc	Superchola	3716.86 b-h	0.85 abc
m120	2809.37 a-f	0.65 abc	m26	3248.74 a-h	0.78 abc	m6	3717.94 b-h	0.58 abc
m73	2814.27 a-f	0.75 abc	m66	3252.00 a-h	0.70 abc	m28	3731.48 b-h	0.41 abc
m7	2830.67 a-f	0.80 abc	m45	3260.23 a-h	0.98 abc	m95	3749.01 b-h	0.75 abc
m100	2885.27 a-f	0.37 abc	m64	3263.34 a-h	0.78 abc	m68	3761.29 b-h	0.38 abc
m82	2889.57 a-f	0.60 abc	m44	3263.46 a-h	0.60 abc	m106	3762.99 b-h	0.63 abc
m83	2915.43 a-f	0.65 abc	m37	3275.50 a-h	0.22 c	m76	3778.66 b-h	0.47 abc
m46	2933.25 a-f	0.77 abc	m36	3286.74 a-h	0.47 abc	m18	3780.87 b-h	0.27 bc



Genotipos	ABCPE	RP	Genotipos	ABCPE	RP	Genotipos	ABCPE	RP
m23	2939.61 a-f	0.70 abc	m34	3298.76 a-h	0.60 abc	m31	3837.26 b-h	0.90 abc
m10	2942.65 a-f	0.72 abc	m2	3299.64 a-h	0.62 abc	m60	3899.86 b-h	0.33 abc
m94	2963.57 a-f	0.45 abc	m72	3304.09 a-h	0.68 abc	m115	3965.68 b-h	0.23 c
m22	2985.89 a-f	0.50 abc	m119	3321.96 b-h	0.50 abc	m69	3972.43 b-h	0.20 c
m79	2992.32 a-f	0.49 abc	m21	3326.85 b-h	0.67 abc	m33	4001.49 c-h	0.67 abc
m97	3000.48 a-f	0.80 abc	m24	3335.11 b-h	0.20 c	m121	4067.44 d-h	0.26 bc
m59	3022.15 a-f	0.80 abc	m42	3349.73 b-h	1.15 a	m108	4103.35 d-h	0.35 abc
m71	3024.59 a-f	0.38 abc	m61	3363.10 b-h	0.73 abc	m88	4154.72 d-h	0.25 bc
m5	3032.32 a-f	0.39 abc	m14	3364.03 b-h	0.40 abc	Uvilla	4237.14 e-h	0.40 abc
m29	3036.12 a-f	0.38 abc	m20	3375.94 b-h	0.63 abc	m93	4286.72 fgh	0.77 abc
m91	3041.42 a-g	0.77 abc	m27	3380.96 b-h	0.53 abc	m114	4723.74 gh	0.33 abc
m87	3049.65 a-g	0.72 abc	m101	3382.33 b-h	0.68 abc	m75	4829.52 h	0.47 abc
m54	3061.45 a-g	0.63 abc	m90	3393.50 b-h	0.32 abc			
m3	3074.96 a-g	0.45 abc	m50	3400.01 b-h	0.60 abc			

[1]Letras diferentes indican diferencias estadísticas según Tukey al 5%; RP = rendimiento por planta; ABCPE = área bajo la curva de progreso de la enfermedad; RP=rendimiento por planta (kg). I= INIAP.

CONCLUSIONES

El uso de radiación con fuente ^{60}Co es una alternativa válida para generar variación para resistencia a tizón tardío. La evaluación de mutantes in vitro para *P. infestans* es una opción para una selección preliminar cuando existen grandes poblaciones. Las evaluaciones en campo permitieron identificar 18 mutantes que mostraron características de resistencia a *P. infestans* y buenos rendimientos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se ejecutó en el marco del proyecto del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) "Inducing Mutation in Agriculture with the Aid of Radiation". Un resumen de este trabajo se presentó en el II Simposio Latinoamericano de Aplicaciones Nucleares en la Agricultura realizado en marzo de 2020 en la ciudad de Quito, Ecuador.

Al Laboratorio de Tecnología de Radiaciones del Departamento de Ciencias Nucleares de la Escuela Politécnica Nacional por el apoyo y colaboración en los procesos de irradiación al material vegetal con la fuente de ^{60}Co.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Jorge Rivadeneira y Xavier Cuesta concibieron la investigación; Roberto López y María Villavicencio desarrollaron la metodología, análisis estadístico y realizaron el trabajo de laboratorio y campo; Jorge Rivadeneira y Xavier Cuesta redactaron el manuscrito; Xavier Cuesta revisó críticamente el contenido del manuscrito.

REFERENCIAS

[1] Zhang, S., Zheng, X., Reiter, R., Feng, S., Wang, S., Liu, S., Jin, L., Li, Z., Datla, R. & Ren, M. (2017). Melatonin Attenuates Potato Late Blight by Disrupting Cell Growth, Stress Tolerance, Fungicide Susceptibility and Homeostasis of Gene Expression in *Phytophthora infestans. Frontier in Plant Science*. 8:1993. Doi: 10.3389/fpls.2017.01993

[2] FAO. (2020). FAOSTAT Statistics Database 2018. Consultado abril del 2020. Disponible en: [http://www.fao.org/faostat/en/#data].

[3] Instituto Nacional de estadística y censos - INEC. (2019). Encuesta y superficie y producción agropecuaria continua. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/

[4] Ministerio de Agricultura y Ganadería - MAG. (2019). "Sistema de Información Pública Agropecuaria. http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/papa

[5] Al-Safadi, B. & Arabi, M. (2003). In vitro induction, isolation and selection of potato mutants resistant to late blight. *J.Genet & Breed*., 57:364-359.

[6] Gabriel, J., Ruiz, I. & Cuesta, X. (2018). Ampliando la frontera agrícola de la papa (*Solanum tuberosum* L.) para disminuir los efectos del cambio climático. *Universidad y Sociedades.* 10(1):46-51.

[7] Sedláková, V., Dejmalová, J., Hausvater, E., Sedlák, P., Doležal, P. & Mazaková, J. (2011). Effect of *Phytophthora infestans* on potato yield in dependence on variety characteristics and fungicide control. *Plant, Soil and Enviroment*. 57:486-491.

[8] Fry, W., Birch, P., Judelson, H., Grünwald, N., Danies, G., Everts, K., Gevens, A., Gugino, B., Johnson, D., Johnson, S. et al. (2015). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a Reemerging Pathogen. *Phytopathology*, 105: 966-981.

[9] Lenman, M., Ali, A., Mühlenbock, P., Carlson-Nilsson, U., Liljeroth, E., Champouret, N., Vleeshouwers, V. & Andreasson, E. (2015). Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against Phytophthora infestans in potato breeding clone SW93-1015. *Theor Appl Genet*. 129: 105–115. Doi: https://doi.org/10.1007/s00122-015-2613

[10] Unda, J., Suquillo, J., Sevillano, C., Pumisacho, M., Ochoa,J. & Barrera, V. (2013). Diagnóstico del manejo de Tizón tardío en la provincia del Carchi, Ecuador. Riobamba, Ecuador: V Congreso Ecuatoriano de la papa.

[11] Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum,* (15), 473-497.

[12] Gamboa, S., Pérez, W., Andrade-Piedra, J. & Forbes, G. (2019). Laboratory manual for *Phytophthora infestans* work at CIP. Lima, Perú: International Potato Center. 78pp.

[13] Huang, S., Vleeshouwers, V., Visser, R. & Jacobsen, E. (2005). An accurate in vitro assay for high-throughput disease testing of *Phytophthora infestans* in potato. *Plant Dis.* 89:1263-1267.

[14] Cuesta, X., Rivadeneira, R. & Monteros, C. (2015). *Mejoramiento genético de papa: conceptos, procedimientos, metodologías y protocolos*. Quito, Ecuador. Insituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 62 p.

[15] Bado, S.,. Rafiri, M., El-Achouri, K., Sapey, E., Nielen, S., Ghanim, A., Forster, B. & Laimer, M. (2016). In vitro methods for mutation induction in potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 15, 39.

[16] Gosal, S.S., Das, A., Gopal, J., Minocha, J.L., Chopra, H.R., & Dhaliwal, H.S. (2001). *In vitro induction of variability through radiation for late blight resistance and heat tolerance in potato* (IAEA-TECDOC--1227). International Atomic Energy Agency (IAEA)

[17] Kowalski, B. & Cassells, A. (1999). Mutation breeding for yield and *Phytphthora infestans* (Mont.) de Bary folia resistance in potato (*Solanum tuberosum* L: cv Golden Wonder) using computerized image analysis in selection. *Potato Research*. 42:121-130.

[18] Salomón, J., González, M., Castillo, J. & Varela, M. (2017). Comportamiento de "Barna", cultivar de papa (*Solanum tuberosum* L.) ante diferentes dosis de rayos gamma de Fuente cobalto 60. *Cultivos Tropicales*, 38(4):127-130.